

20. エイズ研究センター

センター長 佐多 徹太郎 (～H22.10.31)

俣野 哲朗 (H22.11.1～)

概要

エイズ研究センターは、HIVの属するレトロウイルスに起因する感染症を対象とし、その疾病制圧に向けた研究を推進している。特に、世界三大感染症の一つであるHIV感染症の克服に結びつく研究の推進を主目的とし、わが国のエイズ対策研究において中核的役割を果たしてきた。

1981年、米国でエイズ症例の最初の報告がなされて以来、既に30年の歳月が流れている。この間の科学の進歩はめざましく、抗HIV薬開発も進展したが、未だに世界のHIV感染者数は3000万人を超え、毎年200万人近くの方がエイズにより亡くなっていると推定されている。このように世界のHIV感染拡大は極めて深刻な状況にあるが、国内に目を向けても、HIV感染者数増大は加速する傾向にあり、憂慮すべき事態である。当センターは、このHIV感染症の克服に向けたエイズ対策研究拠点として、総合的な戦略研究を推進している。

HIV感染症対策としては、衛生行政・国民への啓発等の社会的予防活動に加え、ワクチン、抗HIV薬を含めた総合戦略が重要である。症状の潜伏期間の長いHIV感染症では社会的予防活動のみによる封じ込めが困難であることから、グローバルなHIV感染拡大阻止の切り札として予防ワクチン開発は鍵となる戦略である。一方、国内のHIV感染症対策としては、上記のグローバルな視点での取り組みおよび国外の疫学情報収集に基づく国内への感染拡大の抑制に加え、国内の社会的予防活動の強化およびHIV感染者の治療法の向上を中心とする総合的かつ持続的な戦略が求められる。そこで当センターでは、「グローバルなHIV感染拡大阻止に必要な予防エイズワクチン開発」、「HIV感染者に対する治療法の向上」、「国内の施策の基盤となる情報獲得」の3点を主目的とする研究を推進している。

予防エイズワクチン開発を目的とする研究としては、優れたエイズモデルを構築し、この系を用いてHIV持続感染成立阻止に結びつく免疫機序の解明研究を展開するとともに、エイズワクチン開発を進めている。特に、世

界有数の優れた細胞傷害性Tリンパ球誘導能を有するセンドライウイルスベクターを用いたワクチンについては、国際エイズワクチン推進構想を中心とする国際共同臨床試験プロジェクトが進展中である。

HIV感染者の治療に関しては、国内の抗HIV薬治療患者検体の解析により、薬剤耐性株の出現・伝播についての調査を進め、臨床へのフィードバックを含め成果を得てきた。これらの解析を継続・発展させるとともに、新規治療薬開発に向けて、HIV複製・感染病態の分子生物学的解析を進め、治療標的となる機序・因子の同定を推進中である。

国内施策の基盤情報獲得に向けては、まず国内の診断・検査技術の向上および精度管理に関して中心的役割を果たしてきており、今後も精度の高い診断体制の確立に貢献していく予定である。さらに、国内外の疫学的調査研究を推進し、これまで特にアジア諸地域の疫学情報を得てきた。また、当センターで構築した感染性分子クローン樹立系は、各HIV株の増殖能等の解析のための基本技術として有用である。一方、HIV流行地域であるアフリカ・アジア等を対象とし、その診断検査技術向上を目的として、国際協力機構の協力によるHIV感染診断技術に関する国際研修を年一回開催している。厚生労働省、文部科学省等の研究費による班研究等にも多数参加している。

以上のように、エイズ研究センターは、研究の推進ならびにその成果の国内外への発信・導入により、わが国におけるHIV感染拡大防止およびHIV感染者・エイズ患者のQOLの向上、さらには世界のHIV感染症の克服に貢献することを目標としている。

なお、平成22年3月31日に前センター長の山本直樹が退職後、4月1日より10月31日まで佐多徹太郎感染病理部長がエイズ研究センター長を併任し、平成22年11月1日より俣野哲朗がエイズ研究センター長に着任した。これまでのセンターの実績に基づく研究の推進に加え、新たな研究システムを導入した研究体制の構築・発展を進めている。平成22年4月1日に石川晃一主任研究

官が休職より復職し、草川茂主任研究官と藤野真之研究員が休職中である（平成 21 年 4 月 1 日より平成 24 年 3 月 31 日まで）。当センターの運営においては、渡邊治雄所長、倉根一郎副所長、岡部信彦感染症情報センター長、保富康宏医薬基盤研究所長、類医科学研究センター長等の方々の協力を得た。

業績

調査・研究

I. 予防エイズワクチン開発に関する研究

1. HIV 感染免疫動態に関する研究

(1) 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球(CTL)のウイルス複製制御能の解析

HIV 複製抑制に結びつく免疫機序の同定は、予防エイズワクチンを初めとする新規予防・治療法の開発に重要である。本研究では、HIV 複製抑制に結びつく抗原特異的 CTL の同定に向け、各種抗原特異的 CTL のウイルス複製抑制能の解析を進めることとした。これまでのサルエイズモデルでのワクチン実験で獲得したサル免疫不全ウイルス (SIV) 複製制御サル群における SIV 各種抗原特異的 CTL レベルと CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能の相関の有無を検討し、Vif 抗原特異的 CTL レベルが SIV 複製抑制能と相関することを明らかにした。この結果は、有効な CTL の標的抗原として、これまで示唆されてきた Gag 抗原に加え、新たに Vif 抗原も有力候補であることを示唆するものとして極めて重要であり、エイズワクチン至適抗原選択のための基盤確立に結びつくことが期待される。

[岩本 南、石井 洋、高橋尚史、俣野哲朗]

(2) ウイルス複製制御個体における CTL 反応の動的変化の解析

HIV 複製制御維持に関与する CTL 反応動態の解明に向け、我々がこれまでに樹立した SIV 複製制御維持群(ワクチンにより SIV 複製制御に至る MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群)における CTL 反応を解析した。このワクチン接種サル群では、Gag206-216 および Gag241-249 エピトープ特異的 CTL が野生型 SIV の複製制御に中心的役割を担っており、上記 CTL からの逃避変異を有する変異 SIV チャレンジを制御することができない。しかし、ワクチン接種後の野生型 SIV チャレンジを制御できたサル慢性期に変異 SIV をスーパーチャレンジしたところ感染が防御された。これらのサルではより多様な SIV 抗原を認識しうる広汎な CTL 反応が誘導され、培養細胞系で変異 SIV の複製抑制能力を有する CTL が誘導されること

が判明した。この広汎化機序の解明により、広汎な CTL 誘導法の開発に結びつくことが期待される。

[岩本 南、俣野哲朗]

(3) CTL 逃避変異の経時的变化の解析

CTL 逃避変異の解析は、宿主 CTL 反応とウイルス複製との相互作用の理解に重要である。平成 22 年度には、サルエイズモデルの SIV 感染慢性期の解析から、ある Gag エピトープ特異的 CTL 逃避変異の置換という現象を見出した。この結果は、CTL が逃避変異選択の後も間接的にウイルス複製抑制に貢献しうることを示すものとして注目される。なお、この変異は Gag カプシド (CA) 蛋白 N ドメインのアミノ酸置換を生じウイルス複製能の低下に結びつくが、その N ドメインのアミノ酸と分子間相互作用する CA 蛋白 C ドメインのあるアミノ酸の置換により、その複製能が回復することが判明した。

[稲垣奈都子(東京大学)、武内寛明(東京大学)、野村拓志、中根 拓、山本浩之、梁 明秀、横山 勝(病原体ゲノム解析研究センター)、佐藤裕徳(病原体ゲノム解析研究センター)、成瀬妙子(東京医科歯科大学)、木村彰方(東京医科歯科大学)、俣野哲朗]

(4) 多様なエイズウイルス株の感染を制御する宿主応答の解析

糖鎖欠失変異によって弱毒化した SIV を生ワクチンとして用い、その感染制御における防御免疫の解析を行った。チャレンジウイルスとしてサブタイプの異なる高病原性の SIVsmE543-3 を用いた。11 頭すべてのワクチン感染サルは、MHC の遺伝子型の多様性にもかかわらず初期感染を制御した。そのうち 7 頭では感染防御が 80 週以上維持された。しかしながら、4 頭では N 型糖鎖付加部位の増加が認められる変異ウイルスが出現した。7 頭の感染防御群と 4 頭の子感染防御群の解析から、感染防御群では、ワクチン接種前から慢性感染期を通して抗原非存在下で IL-15 に応答して IFN- γ 産生や CD107a を発現する CD8+T 細胞と NK 細胞数の頻度が高いという結果が得られた。CD8+細胞をエフェクターとした ex vivo virus inhibition assay でのウイルス増殖抑制は、IL-15 の添加により増強された。この増強は個体差に影響されるが、CD8+T 細胞に対してだけでなく、NK 細胞に対しても認められる結果となった。従って、生ワクチンによる感染防御免疫獲得とその維持には、IL-15 応答性 CD8+細胞 (CD8+T 細胞、NK 細胞) が関与しており、その背景には宿主免疫の遺伝的素因が影響していることが示唆された。

[齋藤陽平、森 一泰]

2. HIV 粘膜感染に関する研究

(1) 霊長類 in situ 器官組織培養 (直腸・膣・回腸パイエル板等) システムの構築と個体レベルにおける粘膜感染の実態解明に関する研究

既存の霊長類を用いた経膣感染モデルのように cell free virus のみを用いた経膣感染モデルを構築するのではなく、より実際の HIV 感染実態を反映した霊長類経膣感染モデルを本邦において構築し、真の HIV 粘膜感染の実態を明らかにすることを目的としている。これまでにサル膣-子宮組織の形態学的な観察によって、内子宮口組織がウイルス感染に重要な領域であるという結果を得ていたが、本年度は以下の知見を得た。

- 1) 中国産旧世界サルの性周期に伴って、ヒトと同様に生理的内子宮口ヘルニアがおこることを初めて明らかにできた。
- 2) 精液を中国産旧世界サルの膣内に導入すると、粘膜直下に SIVmac239 の標的細胞である CD4+CCR5+T 細胞が誘導されることを明らかにできた。
- 3) 中国産旧世界サル由来の精子は、SIVmac239 と直接結合できることを明らかにした。

[仲宗根正、高橋義博(新日本科学)、高宗暢暁(熊本大学)、庄司省三(熊本大学)、三隅省吾(熊本大学)]

(2) Cell-associated virus 経粘膜感染によるサル・エイズモデル開発 (ウイルス曝露非感染モデル)

ウイルス曝露非感染サルモデルの重要性は次のようにまとめられる。人類の中には HIV に濃厚に曝露されるも感染しないヒトが存在する。いわゆるウイルス曝露非感染者である。彼らは理想的な抗 HIV 免疫を獲得していると考えられているため、特にその粘膜免疫の解析はワクチン開発の重要課題となっている。しかしながら、症例の発掘が困難であり、なおかつ粘膜面の解析にはサンプリング量・回数ともに制限が大きい。また、チャレンジ実験が不可能なことから、その症例が真に抗 HIV 免疫を獲得しているのかという確認も不可能である。ウイルス曝露非感染サルモデルはそれらの問題を解決し、HIV 防御免疫本態の詳細情報を提供すると考えられる。昨年度に得られたウイルス曝露非感染サルモデルと思われる 2 頭について頻回のウイルス低量曝露と攻撃曝露を再々度繰り返したが、2 頭で CD4 細胞数が保持された。すなわち感染防御免疫あるいは発症予防免疫等が誘導されている可能性を再確認した。この 2 頭のうち 1 頭は感染成立が確認されるも、残りの 1 頭では非感染が完全には証明

できていない。すなわちウイルス曝露非感染サルモデルの確立には至っていない。しかしながら、同様にその重要性が認識されているウイルス感染長期末発症サル・モデルを得たと考えている。

[仲宗根正、山本直樹(国立シンガポール大学)]

3. ウイルスベクターを用いたエイズワクチン開発

(1) センダイウイルスベクターワクチンに関する研究

我々が開発してきたセンダイウイルス (SeV) ベクターを用いた CTL 誘導エイズワクチンは、SIV 感染サルエイズモデルで初めて有効性を示した点で注目され、接種者全員への効果は期待できないものの集団レベルでの HIV 感染拡大抑制効果の期待のもと、国際エイズワクチン推進構想 (IAVI) を中心とする国際共同臨床試験プロジェクトが進展中である。本研究では、このデリバリーシステムの最適化を目的とした研究を進めている。平成 22 年度には、サルモデルにて、SeV ベクターの接種経路として従来から行ってきた経鼻接種に加えて筋肉内注射 (筋注) の検討を行い、筋注の場合、CTL 誘導は可能ではあるが、抗 SeV 抗体存在下では CTL 誘導が妨げられることを示した。一方、経鼻接種では抗 SeV 抗体存在下でも CTL 誘導を認め、SeV ベクターワクチンの接種経路として経鼻接種が有利であることを確認した。この結果から、臨床応用の障壁の一つとして留意すべき抗ベクター抗体の問題については克服できると考えられた。

[守屋智草(東京大学)、栗原京子、井上 誠(ディナベック(株))、飯田章博(ディナベック(株))、原 裕人(ディナベック(株))、朱 亜峰(ディナベック(株))、長谷川護(ディナベック(株))、保富康宏(医薬基盤研究所)、俣野哲朗]

(2) BCG ベクターワクチンに関する研究

ア. HIV Env および Gag 発現組換え BCG 株のマウスでの免疫誘導能評価

組換え BCG エイズワクチンによる HIV 特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導能を簡便かつ定量的にモニターできるアッセイ法として、HIV-1 Env (V3 領域) および Gag (p24 領域) 特異的 MHC ペンタマーアッセイ法(マウス H2d)を確立した。この系で HIV Gag を高発現する BCG 株を評価したところ、抗酸菌に対する自然抵抗性を持たない Balb/c マウスでは組換え BCG の一回の投与では、Gag 特異的ペンタマー陽性細胞は検出できなかったが、同じ MHC class I と抗酸菌自然抵抗性を持つ DBA/2 マウスでは、投与後 2 週で有意なペンタマー反応性細胞が検出できることがわかった。組換え BCG の細胞性免疫誘導能評価を短期間でできる点で有用である。

一方、種々の抗酸菌由来シグナル配列に HIV-1 *env* 遺伝子を繋ぎ、BCG で安定に発現できる系を探索したところ、BCG 由来 β ラクタマーゼ遺伝子のシグナルに gp120 遺伝子を繋いだ場合に、最も安定に発現できることがわかった。この組換え BCG の免疫誘導能を Balb/c マウスでの細胞内サイトカイン染色法で調べたところ、単独の投与では有意な Env 特異的インターフェロノン産生細胞が検出できなかったが、Env gp140 発現ワクシニア DIs でブーストすることにより、産生細胞が検出され、組換え BCG によるプライミング効果が確認できた。
[堀端重男、横溝香里、森 一泰、松尾和浩]

イ. SIV *env* および *rev-tat-nef* 遺伝子発現組換え BCG 株の構築と、ワクシニア LC16m8 Δ とのプライムブーストワクチンの免疫誘導能評価

前年度に報告した、コドン最適化 SIV Gag 発現株に加え、さらに広範な CTL エピトープに対する細胞性免疫誘導を目指して、SIV *env* gp120, *pol* RT, 及び Rev-Tat-Nef 融合蛋白質遺伝子をそれぞれ発現する BCG 株の構築を試みた。RT は発現レベルが低く実用的ではなかったが、gp120 および Rev-Tat-Nef については著量発現する BCG 株が取得できた。この2種に加え、既に報告したコドン最適化 SIV Gag 発現株の3種をカクテルにして (0.5 mg ずつ) アカゲザル2頭に皮下接種し、同じ遺伝子を発現するワクシニア LC16m8 Δ 株 (10^7 pfu) を1回ブーストし、Gag および Rev-Tat-Nef 特異的な CD4+ および CD8+T 細胞の誘導を確認した。特に免疫群の1頭の CD8+細胞に、非常に強い *in vitro* SIV suppression 活性が認められた。再度ワクシニアでブースト後、SIVmac 251 の経粘膜チャレンジを行う。

[松尾和浩、横溝香里、堀端重男、森 一泰、五十嵐樹彦(京都大学ウイルス研究所)、志田壽利(北海道大学遺伝子病制御研究所)]

4. 粘膜免疫アジュバントに関する研究

(1) キトサンデリバティブの粘膜免疫能に関する研究

これまでに各種キトサンおよびキチン関連物質のアジュバント活性をマウスおよびカニクイサルの経鼻投与の接種実験で解析してきた。その中でキトサン微粒子およびカチオンキトサンの経鼻免疫アジュバントとしての有効性結果を抗体産生能を指標に確認した。また、マウスおよびカニクイサルにおいて副作用等は認められていない。ただし、その使用量は粘膜免疫アジュバントの陽性コントロールに使用したコレラ毒素 (CT) の 20 倍程度が必要であることから、今後、アジュバントとしての

投与量の減量化が求められる。さらにキトサン関連物質の細胞性免疫能の誘導能に関しても検討したい。

[石川晃一、小林 丘、福島健司(大日精化工業(株))、滝口泰之(千葉工業大学)]

II. HIV 感染者の治療法に関する研究

1. HIV 複製機序に関する研究

(1) Rab 蛋白質とそのエフェクター蛋白質の HIV-1 複製における機能解析

細胞内小胞輸送を担う蛋白質の一つである Rab 蛋白質に着目し、HIV-1 複製における機能解析を進行中である。今年度は Rab11 に焦点を絞り、HIV-1 粒子形成における役割について検討した。内在性 Rab11 恒常的ノックダウン 293T 細胞に HIV-1 分子クローンをトランスフェクトしたところ、ウイルス蛋白質の発現やウイルス放出効率に大きな影響は認められなかったが、産生されたウイルス粒子の感染価の低下が認められた。一方、293T 細胞と HeLa 細胞を用いて Rab11 のドミナントネガティブ変異体と恒常活性化型変異体を一過性に強制発現した場合においても、ウイルス蛋白質の発現やウイルス放出効率に大きな影響を与えることなしに発現させた変異体の用量依存的に産生ウイルスの感染価の低下が観察された。以上の結果は、Rab11 が感染性 HIV-1 粒子形成に関与することが示唆している。

[竹村太地郎、呉 鴻規、川又美弥子、鶴岡幹大、村上 努]

(2) HIV-1 複製におけるサイクロフィリン A の機能解析

HIV-1 複製における CypA の機能を解明することを目的として、まず CypA 非依存的に増殖可能な変異 HIV-1 の分離と変異の同定を行った。NL4-3、CypA 非結合型 NL4-3 をサイクロスポリン A 存在/非存在下で Jurkat 細胞に感染し継代培養を行った。ウイルス増殖が確認された感染細胞から抽出したウイルス DNA の Gag 領域の塩基配列解析の結果、既報の CypA 結合部位と異なる領域が CypA の機能に関与することが示唆された。現在、得られた変異を NL4-3 のバックボーンに戻して増殖能の解析を行っている。さらに、異性化酵素活性欠失変異 CypA を用いた機能解析も進行中である。異性化酵素活性を欠失した変異体発現プラスミドを作製し、shRNA を用いて内在性 CypA をノックダウンした 293T 細胞株にこれらの変異体を強制発現させ、HIV-1 感染前期過程に及ぼす影響を検討中である。

[竹村太地郎、川又美弥子、村上 努]

(3) T 細胞における HIV-1 抵抗性遺伝子のスクリーニング

HIV-1 複製は多くの宿主-ウイルス相互作用のうえに成立している。HIV-1 複製を制御する宿主因子の同定と作用機序の解明はウイルス学・細胞生物学的観点からも意義深い。我々はこれまでに T 細胞を用いた HIV-1 抵抗性遺伝子の機能的スクリーニング系を樹立し、HIV-1 複製制御メカニズムに関する解析を行ってきた。今回我々はヒト末梢血由来単核球から得られた cDNA ライブラリーの中からウイルス複製後期過程を標的とする新たな宿主因子として ARHGDI/LyGDI を同定した。複数のヒト CD4 陽性 T 細胞株に ARHGDI/LyGDI を発現増強させると HIV-1 複製抵抗性が再現された。内在性の ARHGDI/LyGDI 遺伝子発現を抑制すると HIV-1 複製の効率が增大した。ウイルス感染初期過程が ARHGDI/LyGDI により抑制され、そのメカニズムは RhoA や Rac1 の機能が阻害されることによりウイルスレセプターの集合および膜融合の過程が障害されるためであることが示唆された。本遺伝子は過去に行われた大規模な遺伝的スクリーニングで抗 HIV-1 活性を持つ遺伝子として同定されていない。これは我々の T 細胞に根ざした実験系が他の実験系を補完できる優れた系であることを示している。ARHGDI/LyGDI による HIV-1 複製制御メカニズムの解明は宿主-ウイルス相互作用の理解を深めるだけでなく新たな抗 HIV-1 戦略の開発にも役立つと期待される。

[駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、森川裕子(北里大学)、山本直樹、渡部匡史(京都大学)、小柳義夫(京都大学)]

2. HIV 感染病態に関する研究

(1) 遺伝子発現プロファイル解析によるエイズウイルス感染制御に関わる宿主遺伝子の探索

糖鎖修飾変異株 Δ 5G は、野生株 SIVmac239 によるチャレンジ感染をほぼ完全に制御する防御免疫を誘導する。そのワクチン効果は、ウイルスの多様性および変異性にも対応することから、 Δ 5G 感染モデルは HIV ワクチン開発研究に必要な防御免疫の解明に重要な役割を果たすことが期待される。本研究は、 Δ 5G 感染により誘導される宿主応答を解析し、SIV 感染防御に働く宿主応答を理解することを目的とする。これまでの研究から、細胞性免疫、液性免疫のいずれも感染防御との相関が見られなかった。 Δ 5G 感染により誘導される多様な SIV の感染を抑制する宿主応答は、新たなウイルス感染制御の機序による可能性が考えられる。そこでアカゲザル遺伝子発現プロファイルの解析により、 Δ 5G 感染ザル、チャレンジ感染を制御したサルに特異的に発現が異なる遺伝子を同定し、感染制御との関係を明らかにする。本年度は、末梢

単核球に発現する遺伝子発現の有用性、解析方法の検討を行った。 Δ 5G 感染、チャレンジ感染防御に伴って誘導される遺伝子プロファイルの解析のために、未感染ザル、ワクチン未接種ザルへの SIVmac239 感染を比較解析群とした。HIV/SIV 感染の発症機構との関連が示唆される感染による自然免疫系の活性化と関連して SIVmac239 感染に特異的な I 型インターフェロン誘導遺伝子群、ケモカイン遺伝子群、TLR 遺伝子群の発現の上昇、 Δ 5G 感染特異的な発現の相違が明らかとなった。 Δ 5G 感染の慢性期における非常に低レベルの感染と関連する免疫細胞として Treg の役割が示唆された。さらにウイルス感染制御に働く免疫細胞として NK 細胞の重要性が示唆する結果が得られた。

[佐藤洋隆、森 一泰]

(2) エイズリンパ腫の病態解明と予防法開発に関する研究

HIV-1 感染者やエイズ患者における死因の上位に位置するエイズリンパ腫の約半数が EBV 陽性であるため、リンパ腫の原因となるエプスタイン-バーウイルス(EBV)に対して特異的な分子治療標的の同定は HIV 感染者の予後を改善するために非常に重要である。潜伏感染細胞での EBV ゲノム維持にはウイルスタンパク質 EBNA1 が必須である。我々は、EBV 陰性細胞への野生型 EBV 新規感染における dominant-negative EBNA1(dnE1)の影響について解析した。dnE1 は新規野生型 EBV 感染に際し、悪性形質に関与する主な EBV 遺伝子発現を阻害することが示唆された。一方、リンパ腫の病態形成には腫瘍細胞が産生するサイトカインが大きな役割を持つ。EBV の感染により、発現が誘導されるサイトカインの同定を試みた。我々は I 型感染様式で 5 つのサイトカイン IP-10、IL-10、CCL3/4/22 が誘導されること、III型潜伏感染様式ではこれらに加えて IL-8/13、PDGF-AA、CCL5 が誘導されることを明らかにした。これらは診断・予後マーカーとして利用価値が高いだけでなく、病態形成への寄与が強く疑われ、治療標的としての潜在性も秘めている。IP-10、CCL3/22 は EBV 感染が未知のメカニズムで発現誘導する新しい学術的知見である。以上の研究はエイズリンパ腫の病態形成を理解し、その治療・予防法の基盤を提供するものとして期待される。

[駒野 淳、刈屋祐美、宮内浩典、浦野恵美子、浜武牧子、吉山裕規(北海道大学)、清水則夫(東京医科歯科大学)]

(3) 抗 HIV-1 療法中の CTL 反応の解析

抗 HIV 薬多剤併用療法 (HAART) により HIV 感染者

の体内ウイルス量は低下するが、CTL 反応もこのウイルス複製抑制に関与している。本研究では、体内抗原量の低下を伴う HAART の HIV 特異的 CTL 反応への影響を、サルエイズモデルにて解析した。SIV 感染サルにおいて抗 HIV 薬投薬システムを導入し、3 ヶ月間の HAART を行って HAART 開始後の体内ウイルス量の低下および HAART 終了後の体内ウイルス量の上昇（ウイルス血症再出現）を確認した。また、SIV 特異的 CTL レベルについても、HAART 開始後の低下ならびに HAART 終了後の上昇を確認した。各抗原特異的 CTL 反応の解析では、HAART 前後で CTL 反応の優位性のパターンに特に変化を認めなかった。

[高原悠佑、中村 碧、松岡佐織、三浦智行(京都大学)、五十嵐樹彦(京都大学)、俣野哲朗]

3. 薬剤耐性に関する研究

(1) 抗 HIV-1 療法中の HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施している。解析を行った検体は平成 23 年 3 月の時点で累積 8624 検体に達している。尚、平成 18 年度からは薬剤耐性遺伝子検査が保険収載されたため、我々のところで実施する検体は、精査目的、経済的理由、そして疫学調査を目的としたものに限られるようになった。このため平成 18 年度以降の解析検体数は保険収載前と比較して大幅に減少した。cART の進歩により薬剤耐性獲得の為に治療に失敗する症例数が減少し、送付される検体の多くは初診時もしくは治療開始時のものが多くなった。また本年度からは薬剤耐性検査に加えて HIV のケモカインレセプター指向性を評価するために gp120 C2V3 領域の配列解析を開始した。

[杉浦 互、宮崎菜穂子、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)、正岡崇志(名古屋医療センター)]

(2) 高感度薬剤耐性検査法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

ア. 高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療患者における微小集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法(高感度法)で新規未治療 HIV/AIDS 症例中の微小集族薬剤耐性変異の検出を試みた。逆転写酵素阻害剤耐性変異の M41L、K65R、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F の 8 変異 (CRF01_AE では K65R を除く 7 変異) を解析対象

とした。(独)名古屋医療センターで 2008 年～2009 年にかけて薬剤耐性検査を行った 184 例(サブタイプ B : 174 例、CRF01_AE : 10 例)について高感度法による微小集族薬剤耐性変異の検出を試みた。2008 年の新規未治療サブタイプ B 患者検体 82 例からは通常法で T215Y 2 個、K219R 1 個、K219Q 1 個が検出され、薬剤耐性変異の検出率は 4.9% だった。この検体を高感度法で検査した結果、M41L が 1 個、K65R が 2 個、K70R が 1 個、M184V が 1 個の計 5 つの薬剤耐性変異が微小集族薬剤耐性変異として新たに検出された。2009 年新規未治療サブタイプ B 患者検体 92 例からは通常法で K103N が 1 個、T215S が 2 個、T215L が 3 個検出され、薬剤耐性変異の検出率は 6.5% だった。同じ検体を高感度法で解析した結果 K65R が 1 個、K70R が 1 個新たに検出された。2008 年新規未治療 CRF01_AE 患者検体 5 例から 3 個の M41L が微小集族薬剤耐性変異として検出された。2009 年の新規未治療 CRF01_AE 患者検体からは通常法でも高感度法でも薬剤耐性変異は検出されなかった。薬剤耐性変異の検出頻度は通常法の結果に高感度法を合わせると、2008 年サブタイプ B では 4.9% から 11.0% に、2009 年サブタイプ B では 6.5% から 8.7% に上昇した。K103N や K65R は、抗 HIV 治療に多く用いられる Efavirenz や Tenofovir に対して高い耐性を与える変異であり、効果的な治療を行う上で抗 HIV 治療開始前に微小集族薬剤耐性 HIV を解析する事は重要と思われる。

[西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、Jeffrey Johnson(米国疾病対策局)、Walid Heneine(米国疾病対策局)、杉浦 互]

イ. 高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の動態と HAART 治療効果との相関についての研究

長期間に渡って薬剤治療を受け、多剤耐性に陥った HIV/AIDS 症例のサンプル中に微小集族として存在する薬剤耐性変異を高感度法によって解析した。長期間 (5 年以上) に渡って HAART を受け、治療途中で薬剤変更と薬剤耐性変異のパターンに変化が見られた症例を検査対象として 10 症例選択し、その中から 1.採血ポイントが 20 点以上、2.各採血ポイントの間隔が半年以内、3.治療途中で薬剤の変更が 1 回以上ある。の条件を満たした 3 症例を選択し、微小集族薬剤耐性変異の検出・経時的変化について解析した。その結果 3 症例中 2 症例から微小集族として存在する薬剤耐性変異を高感度法によって検出した。1 例は抗 HIV 治療途中で Efavirenz を含む HAART が失敗した症例で、Efavirenz 投与開始後すみや

かに K103N が従来法で検出されるようになった。高感度法による解析の結果、Efavirenz の投与を開始する約 1 年前に K103N が微量集族として既に患者血中に存在していた事が明らかになった。別の 1 例では HAART の抗 HIV 薬変更後速やかに T215I が従来法で検出されるようになったが、高感度法による解析から従来法で検出されるより約 1 年前から T215I が微量集族として患者血中に既に存在していた事が示された。高感度法によって得られた T215I amplicon のシーケンス解析によって、従来法で検出されるよりも 1 年前から微量集族として存在していた T215I は、その時点の従来法で検出された T215I の無いシーケンス配列よりも、1 年後に従来法で検出された T215I をもつシーケンス配列と近縁であることが明らかになった。これは患者血中には従来法では検出できない微量集族薬剤耐性変異が既に存在し、薬剤変更によってその微量な耐性変異が主要な集族として増加して薬剤耐性を示す可能性を示している。これらの結果から、高感度法による微量集族薬剤耐性変異解析を行う事でより効果的な ART を選択できる可能性があると考えられる。
[西澤雅子、Jeffrey Johnson(米国疾病対策局)、Walid Heneine(米国疾病対策局)、杉浦 互]

(3) ラルテグラビル耐性クローンに対する MAGIC 5 細胞を用いた薬剤感受性試験

HIV 多剤耐性患者症例、HXB2 野生株のインテグラーゼ遺伝子に、インテグラーゼ阻害剤ラルテグラビル(RAL) に対する耐性変異(148K,148R,148H,155H)を導入し、耐性クローンを作成した。これらの耐性クローンを用いて RAL に対する薬剤感受性試験を MAGIC5 細胞による X-gal 染色により行なった。逆転写酵素阻害剤(AZT、EFV)に対する薬剤感受性試験も行ない比較検討した。その結果、AZT、EFV では多剤耐性患者症例、HXB2 の野生株と耐性クローン間では薬剤感受性に差が認められなかった。しかし RAL では耐性クローンの薬剤感受性が低下し野生株に比べて耐性レベルが上がっていることが認められた。

[鈴木寿子、西澤雅子、杉浦 互]

4. 新規治療法開発に関する研究

(1) HIV-1 感染症治療薬の開発に関する研究

HIV-1 感染症の治療薬は薬剤耐性ウイルスの発生や長期服薬毒性等の問題があるため、新たな薬剤の開発が望まれている。HIV-1 が持つ酵素の中で阻害剤が開発されていない唯一の酵素活性として、逆転写酵素に内在する RNaseH 活性がある。我々は HIV-1 の逆転写酵素が持つ

RNase H 活性を特異的に阻害する小分子化合物の開発を試み 5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester (NACME) 誘導体を同定した。我々は NACME 誘導体を系統的に合成し酵素と化合物の相互作用に関する理解を深めるとともに、より RNase H 活性を強く阻害する誘導体の合成を進めている。一方、HIV-1 が持つ非酵素の中で Gag を標的とする阻害剤は未だに実用化されていない。我々は Gag の重合を阻害する活性を持つ小分子化合物をスクリーニングし、(2-(benzothiazol-2-ylmethylthio)-4-methylpyrimidine, BMMP が CA を分子標的とする抗ウイルス活性を有することを明らかにした。BMMP は HIV-1 の細胞内侵入を特異的に阻害し逆転写過程を阻害することから、この化合物は premature disassembly を誘導する事により抗ウイルス効果を発揮する事が示唆された。RNase H 阻害剤や Gag 阻害剤は既存の抗レトロウイルス薬が標的としないため、これらは次世代抗エイズ薬として貢献することが期待される。また、既に臨床応用されているインテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルは大きな成果を上げているが、薬剤耐性ウイルスが出現していることから、ラルテグラビル耐性ウイルスにも効果を持つインテグラーゼ阻害剤の開発が求められている。我々はペプチドライブラリーからこのような活性を持つ誘導体を 2 種類同定した。これらを非ペプチド化すれば、薬剤耐性ウイルスにも有効な新たなインテグラーゼ阻害剤を開発する事が可能と期待される。

[駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、柳田浩志(千葉大学)、松元輝礁(千葉大学)、星野忠次(千葉大学)、森川裕子(北里大学)、玉村宏和(東京医科歯科大学)]

(2) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

私達は、新規 CXCR4 アンタゴニスト KRH-3955 が経口投与可能で、in vitro、hu-PBL-SCID マウスモデルの両方で高い抗 HIV-1 活性を示すことを見出した。平成 22 年度は、RH-3955 と KRH-3148 (対照薬剤として、AMD3100 と AMD070) を用いた PM1/CCR5-NL4-3 の感染系による薬剤耐性誘導実験(耐性誘導約 2 年)で得られた感染細胞から DNA を抽出し、HIV-1Env 領域全体を PCR 法にて増幅し、この領域に蓄積された変異を解析した。得られた耐性 HIV-1 株の Env 領域中の V3、V4 領域に共通した変異が認められた。また、いずれの CXCR4 阻害剤から誘導された耐性 HIV-1 由来 Env 組換え株もすべての CXCR4 阻害剤に対して同時に耐性を獲得していた。

[竹村太地郎、川又美弥子、熊倉 成((株)クレハ)、山崎 徹((株)クレハ)、前田洋助(熊本大学)、山本直樹(国立シン

ガポール大学)、村上 努]

(3) HIV-1 マトリックスタンパク質 (MA) 部分ペプチド細胞内導入によるウイルス複製制御に関する研究

HIV-1Gag 蛋白質の構成成分である MA の部分ペプチドに細胞膜透過性を付与して細胞内に導入することにより、ウイルス蛋白質同士やウイルス蛋白質と宿主因子の相互作用に影響を与え、その結果 HIV-1 の複製を阻害できるか否かを検討中である。HIV-1NL4-3 の MA 全長の 132 アミノ酸について、5 残基ずつオーバーラップさせながら 15 残基の部分ペプチドライブラリーを設計し、細胞膜透過性を付与するため、膜透過性配列であるオクタアルギニン配列を各ペプチドの C 末端に付加した。計 26 種の部分ペプチドライブラリーについて細胞毒性試験と抗 HIV-1 (X4HIV-1 と R5HIV-1 の両方) 活性試験を行った結果、micro M のオーダーで HIV-1 複製を顕著に阻害する部分ペプチドを見出した。興味深いことにこれらの部分ペプチドは MA の多量体化に関与する領域と推定されている。現在、ウイルス複製阻害の詳細な作用機序を解析中である。

[川又美弥子、小森谷真央(東京医科歯科大学)、野村 涉(東京医科歯科大学)、鳴海哲夫(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、村上 努]

(4) 糖鎖修飾中空糸による HIV 除去に関する研究

NEDO「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトのテーマの一つである「糖鎖機能分子利用病原体・毒素除去装置の開発」において(株)DICとの共同研究で糖鎖を固定化した中空糸による HIV-1 の除去方法の可否を検討した。その結果、弱いながら HIV-1 との相互作用が報告されている GM3、Gb3 を固定化した中空糸では HIV-1 をほとんど除去できないことが明らかになった。しかしながら、糖鎖固定化の基盤として使用したアクリル酸グラフト中空糸や硫酸多糖を固定化した中空糸を使用するとウイルスはあまり除去されないが、処理したウイルスの感染能が顕著に減少することを見出した。今後はその作用機序について検討を予定している

[江原 岳((株)DIC)、川又美弥子、三浦 博((株)DIC)、村上 努]

(5) レンチウイルスベクターの改良に関する研究

レトロウイルス Gag タンパク質の N 末端ミリスチル化は Gag の細胞膜 targeting・Gag 集合・細胞表面への輸送・budding・感染初期過程に重要な機能を持つ。我々は Gag 本来のミリスチル化シグナルを異種のタンパク質

の細胞膜輸送シグナルに改変しても Gag 機能が維持されることを明らかにした。これをもとに産生効率が従来より約 10 倍に増大した改良型レンチウイルスベクターを開発した。また、N 末端に外来タンパク質を融合させて、偽ウイルス粒子内に取り込ませ、標的細胞に外来タンパク質を送達する新規タンパク質輸送システムを開発した。レンチウイルスベクターはヒト遺伝子治療に今後広く使用されることが期待される。ウイルスベクターの工業的産生に際し、ウイルスベクターの産生量を増大させる本技術は、治療にかかる費用と時間を大幅に減らすために大きく役立つと期待される。また、偽ウイルス粒子によるタンパク質送達は細胞のゲノムを障害することがないため、安全な iPS 細胞の導出や細胞分化誘導への応用が期待される。

[駒野 淳、青木 徹、宮内浩典、浦野恵美子、市川玲子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、村上 努、山本直樹]

(6) iPS 細胞を用いた新規治療法開発の試み

ア. ヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の作製とその解析

エイズの遺伝子治療において、患者より採取した HIV 標的細胞の前駆幹細胞に HIV 抵抗性を付与し患者体内に戻す方法は、HIV 非感染幹細胞の量的確保等の技術的な困難に直面している。ところが、2007 年に京都大学の山中らによってヒト体細胞からの人工多能性幹細胞 (Induced Pluripotent Stem Cells, iPS 細胞) の作製法が開発されたことにより、患者の HIV 非感染体細胞を初期化し、遺伝子操作した幹細胞を大量調製できる可能性が開けてきた。

本研究では、iPS 細胞作製技術の確立と併せてその遺伝子操作法を開発するために、まず、ヒト腎上皮初代培養細胞からの iPS 細胞樹立を試みた。その結果、形態的にヒト皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞に酷似した複数の細胞株の樹立に成功した。それらの細胞株はアルカリホスファターゼ染色陽性であること、免疫蛍光染色により未分化細胞特異的抗原が検出できること、免疫不全マウスを用いたテラトーマ形成実験により *in vivo* での 3 胚葉への分化能が、培養細胞で *in vitro* での分化能が確認され、多能性を有する iPS 細胞であることが証明できた。更に、RT-PCR による未分化細胞特異的遺伝子の発現解析により、皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞とは異なる発現パターンが確認された。

[阪井弘治、武田 哲、網 康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、山本直樹(国立シンガポール大学)、梁 明秀(横浜市立大学)、松村隆紀(首都大学東京)、宮本寛治(首都大学東京)]

イ. HIV-1 抵抗性遺伝子を導入した iPS 細胞の樹立

iPS 細胞はその名の通り、多能性を持っており免疫系の細胞へも分化が可能である。HIV 感染の治療には免疫系の再構築が重要であるが、現行の HAART ではこれを期待することは難しい。そのため、HIV 感染者・エイズ患者の HIV 非感染の自己組織より iPS 細胞を樹立する。つぎに、iPS 細胞の遺伝子を改変、あるいは新規遺伝子を導入することで HIV に対する抵抗性を付与し、感染者・患者に自家移植することを最終目的として実験を開始した。今回は変異型 APOBEC3G 遺伝子の導入をウイルスベクターを用いて行った。薬剤選択の後、RNA およびタンパクを回収し、RT-PCR およびシーケンス、Western blot により実際に APOBEC3G の変異型を発現する iPS 細胞を樹立することができた。今後、HIV-1 が感染する細胞へと *in vitro* で分化させ感染実験を行う予定である。

[武田 哲、山本直樹(国立シンガポール大学)]

III. 国内のエイズ対策等の施策基盤構築に関する研究

1. 国内外の HIV-1 流行の疫学的研究

(1) わが国およびアジア地域における同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の分子疫学に関する調査分析とその国際比較

わが国の HIV 新規感染者の約 70% が同性間性接触による。世界および近隣のアジア諸国における MSM 新興・再興流行の急速な拡大の大きな流れの中にあると考えられる。わが国では、80 年代はじめ、欧米の MSM 流行が波及し、その結果、流入した欧米型パンデミック B 株による強力なファウンダー効果により、現在なお欧米型サブタイプ B の圧倒的な優位(>95%)が維持されている。このような特徴は、アジアの先進工業国である韓国にも典型的に見られる。一方、アジアの開発途上国の多くでは、地域の流行に大きな影響を受けている。タイでは CRF01_AE が 75% 以上を占める。また、台湾、シンガポールなどでは、サブタイプ B が依然優位を占めるが CRF01_AE の割合が 20% あるいはそれ以上に達している。特に中国では、サブタイプ B に換わって CRF01_AE の拡大が急速に進行しつつある（地域によっては、その割合が 50% 以上に達している）。

[武部 豊]

(2) 中国における HIV-1 流行株の遺伝子型分布

2010 年の UNGASS (国連総会) カントリー・リポート (2008-2009 年) においても指摘されているように、中国

においては、地域毎に流行拡大の速度、感染経路に関して極めて大きな多様性がある。それを反映し、流行株の遺伝子型分布に関しても顕著な地域差が見られる。中国全体では、CRF07_BC, CRF08_BC, B', CRF01_AE の 4 種が主要な流行株である。大まかにみて、前 2 者が注射薬物乱用者 (IDU), B' がプラズマ供血経験者 (Former plasma donors, FPDs)、CRF01_AE が異性間感染者 (heterosexuals) に分布する主要なウイルスで、地域的には、それぞれ中国北西部 (Xinjiang), 南東部 (Yunnan, Guangxi, Guangdong), 内陸部 (Henan, Hubei など), 中国沿海部に分布する。しかしこのような傾向は、流行の経過と共に急速に変化しつつある。

[武部 豊、He Xiang(中国 CDC)、Shao Yinming(中国 CDC)]

(3) 中国における HIV-1 サブタイプ B' 株によるプラズマ供血経験者 (FPD) 間の流行とその一般集団への播種に関する分子疫学研究

90 年代初めから中頃にかけて、河南省を中心とする中国内陸部において、不法買血 illegal plasma collection によりプラズマ供血経験者 (Former plasma donors, FPDs) の間に、数 10 万人に及ぶ大規模な感染爆発が起こった。これは、HIV-1 サブタイプ B' (サブタイプ B のタイ型ヴァリエーション) によるものであるが、われわれの分子疫学的解析により、FPD 間のウイルスが、先行する東南アジア地域の注射薬物乱用者 (IDU) に由来し、強力なファウンダー効果を示す特別なサブクラスター (B'FPD と命名) を形成することが明らかとなった。さらに、この地域のみられる異性間性接触による感染者の多くに見出されるサブタイプ B' 株も同一のクラスターに属することから、流行が一般集団に急速に移行しつつあることが強く示唆される。

[武部 豊、Li Yue(武漢ウイルス学研究所)、Yang Rongge(武漢ウイルス学研究所)、Han Xiaoxu(中国医科大学エイズ研究センター)、Shang Hong(中国医科大学エイズ研究センター)、He Xiang(中国 CDC)、Shao Yinming(中国 CDC)]

(4) アフリカ地域における HIV/AIDS の疫学的、臨床学的解析

ガーナにおける HIV 感染者の ART(抗ウイルス療法) 治療効果と薬剤耐性、蔓延 HIV 株と病態との関連、HIV サブタイプの解析および他の感染症の蔓延状況の調査結果等を解析している。ガーナ中央部に位置するコフォルディアおよび北部に位置するタマレにある州立病院を拠

点に採血を行い、述べ 1000 人以上より血液材料を採取し、血清ウイルス量、CD4 値、遺伝子解析による薬剤耐性遺伝子変異および HIV サブタイプの同定を行っている。これまで得られている結果としては ART 治療者の 8 割以上はウイルス量が制御されており良好な治療効果がみられる。しかしながら一部の患者感染者には薬剤耐性変異が見られると併にウイルス量が高値を示すものも検出されている。また HIV 感染者の中に 10 数パーセントの B 型肝炎ウイルス感染者が存在することも明らかになり、さらに梅毒の感染者も多数検出された。今後ガーナにおいても第 2 世代の ART(プロテアーゼインヒビター等)の導入も予定されているが、薬剤耐性遺伝子解析はまだ十分に行われておらず、さらには他の感染症との混合感染の問題もあり治療指針等の見直しも必要になると思われる。今後さらに詳細にデータを検討し、ガーナにおける HIV 感染者およびエイズ患者の QOL 向上にサポートをしていきたいと考えている。

[石川晃一、杉浦 互、伊部史朗(名古屋医療センター)、感染症研究国際ネットワーク推進プログラム、ガーナ野口記念医学研究所]

(5) 新規 HIV/AIDS 診断患者における変異の解析

多剤併用療法 (combination antiretroviral therapy: cART) が普及した今日、HIV に新たに感染し、未治療にもかかわらず既に薬剤耐性変異を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は先進諸国で 10-15%といわれている。我々は日本における薬剤耐性 HIV の伝播の動向を明らかにするために 2003 年より全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施している。薬剤耐性検査ではプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ領域を、サブタイピングでは *env* C2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 03 年：273 例、04 年：306 例、05 年：429 例、06 年：457 例、07 年：482 例、08 年：626 例、09 年：635 例、10 年：622 例であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 30-40 歳代の男性が中心で (>90%)、感染経路は同性間性的接触が 65-72%を占めていた。サブタイプは、いずれの年も 70%以上が B であり、次いで CRF_01AE であった。薬剤耐性症例の頻度は 03 年：5.9%、04 年：5.4%、05 年：8.0%、06 年：7.0%、07 年：9.9%、08 年：8.3%、09 年：8.5%、10 年：12.5%であった。このように検出される耐性変異保有症例の頻度は年々増加している。また、逆転写酵素阻害剤耐性変異 T215X、K103N、プロテアーゼ阻害剤耐性変異 M46I/L は毎年必ず一定の頻度で検出され

ており、これらの変異を有する HIV 株は既に流行株となっていることが危惧される。

[杉浦 互、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)、松田昌和(三菱化学メディエンス(株))]

2. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) HIV-1 感染性クローン樹立法ならびに各種研究技術の確立

著しい多様性を示す HIV-1/2 において分離ウイルスから迅速に感染性分子クローンを樹立することを目的に方法論の改良を引き続き試みている。HIV-1/2 全長ゲノム増幅に用いる PCR 酵素及び Primer 設計をさらに考慮したところ従来よりも迅速に多数の感染性分子クローンを樹立することが可能になった。本年度はこの方法論を本邦で分離された HIV-2 ウイルスに応用して感染性分子クローンを樹立した。

[巽 正志]

ア. In-Fusion 酵素による One-Step HIV-1 Cloning Strategy の樹立

当室では現在まで HIV-1 ゲノムを上流、下流に区分し One Cut 制限酵素サイトを含む Primer で増幅した後繋ぎ合わせる Half & Half 戦略による「HIV Trapping System」を用いて感染性分子クローンを樹立していたが、この戦略は One -Cut 制限酵素を見出す過程で難儀する検体も希ながら存在する。汎用性のある樹立法を確立するため制限酵素による繋ぎ合わせを必要としない方法論として Vaccinia Virus 由来の相同組換え酵素を用いた In-Fusion Cloning 系の感染性分子クローン作成への応用を一昨年度から試みている。この酵素は Vector と組込む Insert に 15 塩基の相同性を認識して末端同士を結合する。HIV-1/2 の PBS 領域と 3'LTR の PolyA Signal 下流領域の塩基配列は多くの HIV-1 Group M 及び HIV-2 Group A/B で保存されている。これらの特徴を利用して作成したい HIV-1/2 の subtype/CRF が判明すれば、現在まで作成した感染性分子クローンから同じ subtype/CRF のクローンを選別し、Vector 側を pMT1/pMT4 の Not I サイト側を含む Primer と PBS 側で 5'LTR を含む Vector 片を用意し、標的の HIV-1/2 プロウイルスを 15 塩基配列が重複した PBS 領域配列と PolyA 下流領域と Vector Not I サイト領域を含んだ Primer Set で増幅し、両者を相同組換え酵素存在下で反応させる事で全長 HIV-1/2 クローンを樹立する方法論である。一昨年度はその樹立効率は実用にはまだ低かったが、昨年度は Primer 設計の改善と組換え酵素の安定性が向上したことにより樹立効率が向上した。本年度

はさらに HIV-1 での Primer 設計などの実験条件を精査し、ほぼ高効率に HIV-1 では感染性分子クローンを迅速に樹立することが可能になった。今後は HIV-2/SIV にも応用を目指す。

[巽 正志]

イ. 邦人感染者由来薬剤耐性ウイルス subtype B 感染性分子クローンの樹立と解析

当室ではこれまで本邦で流行している主要なウイルス株である HIV-1 subtype B と CRF01_AE 組換体の Naïve ウイルス由来感染性分子クローンの標準株を整備した。本年度は様々な薬剤耐性プロファイルを呈する耐性ウイルスの感染性分子クローンを整備する目的で、治療中の患者由来で典型的な各種薬剤耐性プロフィールを呈する薬剤耐性ウイルスから引続き標準株クローン樹立を継続している。特に新しいプロテアーゼ阻害剤として治療に用いられつつある Darnavir に対する耐性ウイルス株由来の感染性分子クローンが樹立された。これらのクローンは薬剤耐性 subtype B の解析と耐性試験標準化に有用であると期待される。

[平野利恵、西澤雅子、杉浦 互、巽 正志]

ウ. 本邦で分離された HIV-2 ウイルスの感染性分子クローンの樹立と解析

これまで第2室では国内で流通する HIV 感染診断キットの性能試験に資するため、著しい多様性を呈する HIV-1 グループ M の様々な subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを整備してきた。昨今、東海地方で2日本人女性から HIV-2 感染が報告され、感染者数は希であるとしても HIV-2 感染診断のレファレンスとして HIV-2 感染者検体とウイルスの整備が必要となる情勢である。本年度は名古屋医療センターで西アフリカ出身者から分離された HIV-2 ウイルス由来の感染性分子クローンを、上記に述べた In-Fusion 酵素による One-Step HIV-2 Cloning Strategy を試みつつ樹立した。本感染性分子クローンは HIV-2 Group A に属しており、現在全ゲノム配列と、その性状を解析の途上である。

[平野利恵、梅木優子、杉浦 互、巽 正志]

(2) HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の開発

未治療 HIV 感染者の中にも存在が予想されている薬剤耐性 HIV、すなわち潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査を目的として、これまでに耐性遺伝子超高感度定量法を開発した。しかしながら次世代シーケンサーを用いた絶対的定量法の低コスト化が進み、実用的なレベルに達した

ため、解析データ量で劣る本法の開発は中止した。今年度は、もうひとつの重要課題である HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の開発について酵素学的な試験法の確立に取り組み、以下の知見を得た。

- 1) HIV 治療薬 3TC と Nevirapine(NVP)に対する酵素学的 HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法を開発するため、Real-Time-Amp-RT 法を用いた。
- 2) 本法では、3TC に対する M184I/V、NVP に対する K103N、Y181C/I、G190A/Q といった変異 HIV-RT の抵抗性をそれぞれ迅速に測定可能であった。
- 3) 本法の感度と特異度は M184I/V でそれぞれ 97.0%と 96.0%であった。
- 4) K103N らでは、それぞれ 97.4%と 96.2%であった。

以上のように精度の高い酵素学的 HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法が確立された。

[仲宗根正、Walid Heneine(米国 CDC)、杉浦 互]

品質管理に関する業務

I. 行政検査

1. 体外診断薬承認前試験

本年度は2件の体外診断薬の承認前試験を行った。

[巽 正志]

II. HIV 感染診断のための標準品整備

1. 日赤献血由来陽性検体からなる国内感染者 HIV 感染研パネル整備

国内で市販される HIV 感染診断キットの公的性能試験を第2室は担っている。現在診断キットの性能試験に用いている陽性検体の多くは HIV-1 流行初期の米国血液銀行より入手した血漿を供試している。HIV 感染診断キットの性能も技術革新により年々改良され、現在では第1次スクリーニング試験として抗原・抗体同時測定系が推奨され、ウインドウ期を短縮するため HIV-1 p24 gag 抗原検出感度が更に改良された診断キットが欧米先進国において既に市場に導入されている。感染者増加が続く本邦においては、感度と特異性に優れた HIV 感染診断キットの早期導入は感染者の早期発見と適切な治療の開始のみならず、感染者の増加に歯止めをかけるため第1義的に重要であるが、これまで国内感染者検体入手が個人情報保護の側面から困難であったため承認前試験申請に遅延をきたす例が多かった。この現状を改善するため日赤より2004年度から2006年度に互る HIV 陽性 84 検体と陰性 50 検体の譲渡を受けた。これらの検体は全て当室で分子遺伝学的特性付けを行い、また現在 HIV 感染診断キットを販売している主要な数社の協力を得て全検体の特性

を検討した上で選別し、陽性 80 検体及び陰性 20 検体からなる感染研公的 HIV-1 パネルとして整備した。またパネル運営委員会規程など公正な運営に必要なシステムを構築した。診断キットメーカーからなる臨床診断薬協会を通じた説明会などを開催し平成 23 年度内の運営実用化に向けて努めている。

[巽 正志、水落利明(血液・安全性研究部)、百瀬俊也(日赤血液事業本部中央研究所)、柚木久雄(日赤血液事業本部中央研究所)、日野 学(日赤血液事業本部中央研究所)、田所憲治(日赤血液事業本部中央研究所)]

2. 国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの特性付け

HIV 感染診断キット及び HIV-1 RNA 定量測定キットの性能も技術革新により多様性に富む様々な HIV-1/2 株に対応すべく年々改良されている。特に HIV-1 RNA 定量測定キットはキットにより HIV-1 ゲノムの標的領域が異なることから、国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの全ゲノムの配列決定を試みている。今年度はパネル構成全検体の p24 gag 領域の塩基配列を決定し系統樹解析をしたところ、既にパネル整備時に行った p17 gag 及び env C2/V3 領域の系統樹解析と相同な成績が得られた。解析した p24 gag 領域は国内で広く用いられている HIV-1 RNA 定量測定キットの標的領域であることから感染研 HIV 標準パネルの標準品としての価値を高めるものと考えられる。今後は更に他のゲノム領域についても配列決定を進める予定である。

[梅木優子、永井美智、巽 正志]

3. コバス TaqMan HIV-1 「オート」 v 1 による低定量検体への対応

これまで HIV-1 治療効果判定に頻用されているウイルス量の定量測定は、ロシュ・ダイアグノスティックス社のコバス アンプリコア モニター v1.5 が標準として用いられてきたが、一昨年度から、より検出範囲が広がった Real-Time RT-PCR 法を測定原理とするコバス TaqMan HIV-1 「オート」 v 1 が市場に導入され、きわめて希であるがコバス アンプリコア モニター v1.5 で定量計測出来ていた患者検体が著しく低く計測される、いわゆる「低定量検体問題」が指摘され、ロシュ・ダイアグノスティックス社は、この「低定量検体問題」に対応してコバス TaqMan HIV-1 「オート」 v 2. 0 を申請した。改良点を明瞭に判別する性能試験で用いる「低定量検体」の収集が困難なため、国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルでは既にパネル構成全検体でロシュ・ダイアグノスティックス社の定量測定キットの標的領域である

p24 gag 領域の塩基配列を決定し系統樹解析をしていたため、両バージョンの定量計測値の統計処理にて対応した。そのうち「低定量検体」1 検体の入手ができ改良点を確認できた。このことから国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの更なる特性付け、全ゲノムの配列決定が必要となることが示された。なお該当「低定量検体」ウイルスからも今後のレファレンスとすべく既に感染性分子クローンを樹立した。

[永井美智、近藤真規子(神奈川県衛生研究所)、巽 正志]

4. 各種 subtype/CRF 感染性分子クローン由来大腸菌発現 p24 gag 抗原発現の試み

各種 subtype/CRF 感染性分子クローンをを用いた抗原・抗体同時測定系の感度試験用標準パネルの可能性の目処は立ちつつあるが、これらの抗原濃度はある抗原測定系で計測した濃度であることから検出感度はあくまでも相対的な評価になる。また感染性分子クローンの発現により得られたウイルスを溶解処理してその感染性を除去しても配布に当たっての取扱いは安全上配慮を要する。そこで大腸菌における HIV-1 p24 gag タンパク抗原の発現と精製を試みている。複数の感染性分子クローンを鋳型に HisTag を付加した p24 gag を発現精製して複数の p24 gag 検出 ELISA 測定系で解析検討をしている。今後は主要な subtype/CRF の p24 gag 精製抗原パネルを整備し、第四世代抗原・抗体同時測定系の抗原感度比較試験における標準とすべく進めていく。

[平野利恵、梅木優子、巽 正志]

5. WHO 主催 3rd HIV-1 RNA 国際標準品作製への参加

本年度 WHO 主催の 3rd HIV-1 RNA 定量測定用国際標準品作製のため 11 カ国 15 機関の研究室が 3 標準品候補品を測定することになり、日本では当室が参加し In-House Nested RT-PCR 法と Real-Time RT-PCR 法で測定報告した。各国からの測定値がまとめられ次回に開催される Expert Committee on Biological Standard で討議され国際標準単位を取り決めることとなった。

[巽 正志、水澤佐衛子(血液・安全性研究部)]

国際協力関係業務

I. 平成 22 年度 JICE/JICA とエイズ研究センター共催による JICE 研修員受入事業「診断とモニタリングのための HIV 感染検査マネジメント」(平成 22 年 6 月 14 日 -7 月 16 日)

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠

かせない。このためには確固とした診断技術に基づいたHIV-1感染診断が必須である。近年HIV-1の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができるPCR法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターではJICAとの共催により第三世界の研修員を対象にHIV-1の感染診断のための技術講習コースを毎年1回開催している。過去3フェーズ（各フェーズ5年）に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきた。第3フェーズでは、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて「HIV感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改めPCRや塩基配列解析などを含めた研修を行った。そして平成20年度から（各フェーズ3年）は、途上国のナショナルレファレンスラボ（またはそれに準ずる組織）にHIV感染・エイズの診断とモニタリングに必要な理論的背景知識およびそれらの検査技術の普及を図るため、「診断とモニタリングのためのHIV感染検査マネジメント」というコース名で研修を開始した。平成21年度は新型インフルエンザ発生の影響で例年より規模を縮小しての実施であったが、平成22年度は規模を戻し、ボツワナ、中国、ケニア、マラウイ、ミャンマー、ナイジェリア、スワジランド、タンザニア、ジンバブエの9カ国11名の研修員を対象に、5週間にわたって村山庁舎を中心として技術研修を行った。研修内容は診断に必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は3〜4名ずつ3班に分けて行った。今フェーズの第1回目で試験的に導入した「PCRワークショップ」も3日間実施した。研修員が主体となり希望するPCR関係の実験や塩基配列解析を行い、学習した実験技術・解析方法の確実な習得を目指した。研修員の積極的な参加を得て高い成果をあげることが出来た。

[村上 努、仲宗根正、杉浦 互、鈴木寿子、西澤雅子、武部 豊、椎野禎一郎、巽 正志、阪井弘治、武田 哲、森 一泰、石川晃一、駒野 淳、竹村太地郎、佐多徹太郎、杉山和良（バイオセーフティ管理室）、伊木繁雄（バイオセーフティ管理室）、横田恭子（免疫部）、岡部信彦（感染症情報センター）、水澤左衛子（血液・安全性研究部）、梁 明秀（横浜市立大学）、俣野哲朗（東京大学医科学研究所）、Jintana Ngamvithayapong-Yanai（財団法人結核予防会結核研究所）、本多美和子（独立行政法人国立国際医療研究センター）、小柳義夫（京都大学ウイルス研究所）、若杉なおみ（筑波大学大学院生命環境科学研究科）、増田道明（獨協

医科大学）、内田茂治（日本赤十字社中央血液研究所）]

II. その他

1. 平成 22 年度 JICE/JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース 講師（平成 23 年 3 月 8 日）[駒野 淳]
2. 平成 22 年度 JICE/JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース 講師（平成 23 年 3 月 14 日）[武部 豊]

研修業務

1. 湘南学園高等学校見学・研修「麻疹ポリオ、エイズ、マラリア」エイズ担当（平成 22 年 6 月 30 日）[石川晃一]
2. 早稲田大学公開講座「知の市場」感染症総合管理 1a 講師「エイズ/HIV の最新知見」（平成 22 年 7 月 27 日）[村上 努]
3. 「第 21 回 HIV-1,2 技術研修会」（平成 22 年度 10 月 7-9 日）[杉浦 互]
4. 高校生対象のシンポジウム「世界の感染症 2010」アフリカの感染症担当（平成 22 年 11 月 20 日）[石川晃一]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表
 - 1) Iwamoto N, Tsukamoto T, Kawada M, Takeda A, Yamamoto H, Takeuchi H, Matano T: Broadening of CD8⁺ cell responses in vaccine-based simian immunodeficiency virus controllers. *AIDS* 24: 2777-2787, 2010.
 - 2) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. *Immunogenetics*, 62(9): 601-611, 2010.
 - 3) Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M: Intradermal delivery of recombinant vaccinia virus vector DIs induces gut-mucosal immunity. *Scand J Immunol* 72: 98-105, 2010.
 - 4) Matsuo K, Yamamoto N: Paradigm change in immune correlation: cellular or humoral? *Expert Rev Vaccines* 9:

- 985-987, 2010.
- 5) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N, Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y, Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W: Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral Res* 88(1): 72-79, 2010.
 - 6) Hirano A, Takahashi M, Kinoshita E, Shibata M, Nomura T, Yokomaku Y, Hamaguchi M, Sugiura W: High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of the new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor etravirine (TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma. *Biol Pharm Bull* 33(8):1426-1429, 2010.
 - 7) Bandaranayake RM, Kolli M, King NM, Nalivaika EA, Heroux A, Kakizawa J, Sugiura W, Schiffer CA: The effect of clade-specific sequence polymorphisms on HIV-1 protease activity and inhibitor resistance pathways. *J Virol* 84(19): 9995-10003, 2010.
 - 8) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: HIV-2 CRF01_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr* 54(3): 241-247, 2010.
 - 9) Saeng-aroon S, Tsuchiya N, Auwanit W, Ayuthaya PI, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Rojanawiwat A, Kannagi M, Ariyoshi K, Sugiura W. Drug-resistant mutation patterns in CRF01_AE cases that failed d4T+3TC+nevirapine fixed-dosed, combination treatment: Follow-up study from the Lampang cohort. *Antiviral Res* 87(1): 22-29, 2010.
 - 10) Matsuyama S, Aydan A, Ode H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T: Structural and energetic analysis on the complexes of clinically isolated subtype C HIV-1 proteases and approved inhibitors by molecular dynamics simulation. *J Phys Chem B* 114(1): 521-530, 2010.
 - 11) Murakami T, Yamamoto N: The role of CXCR4 in HIV infection and its potential as a therapeutic target (Review). *Future Microbiol* 5(7): 1025-1039, 2010.
 - 12) Nakahara, T, Nomura W, Ohba K, Ohya A, Tanaka T, Hashimoto C, Narumi T, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura T: Remodeling of dynamic structures of HIV-1 envelope proteins leads to synthetic antigen molecules inducing neutralizing antibodies. *Bioconjug Chem* 21(4): 709-714, 2010.
 - 13) Suzuki S, Maddali K, Hashimoto C, Urano E, Ohashi N, Tanaka T, Ozaki T, Arai H, Tsutsumi H, Narumi T, Nomura W, Yamamoto Y, Pommier Y, Komano JA, Tamamura T: Peptidic HIV integrase inhibitors derived from HIV gene products: structure-activity relationship studies. *Bioorg Med Chem* 18(18): 6771-6775, 2010.
 - 14) Suzuki S, Urano E, Hashimoto C, Tsutsumi H, Nakahara T, Tanaka T, Nakanishi Y, Maddali K, Han Y, Hamatake M, Miyauchi K, Pommier Y, Beutler JA, Sugiura W, Fuji H, Hoshino T, Itotani K, Nomura W, Narumi T, Yamamoto N, Komano JA, Tamamura H: Peptide HIV-1 integrase inhibitors from HIV-1 gene products. *J Med Chem* 53(14): 5356-5360, 2010.
 - 15) Aoki T, Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tamamura H, Terashima K, Murakami T, Yamamoto N, Komano J: Improvement of lentiviral vector-mediated gene transduction by genetic engineering of the structural protein Pr55^{Gag}. *Gene Ther* 17(9):1124-1133, 2010.
 - 16) Hamatake M, Komano J, Urano E, Maeda F, Nagatsuka Y, Takekoshi M: Inhibition of HIV replication by a CD4-reactive Fab of an IgM clone isolated from a healthy HIV-seronegative individual. *Eur J Immunol* 40(5): 1504-1509, 2010.
 - 17) Urano E, Ichikawa R, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Komano J: T cell-based functional cDNA library screening for cellular regulatory genes of human immunodeficiency virus replication. *Vaccine* 28 Suppl 2: B68-74, 2010.
 - 18) Kariya Y, Hamatake M, Urano E, Yoshiyama H, Shimizu N, Komano J.: A dominant-negative derivative of EBNA1 represses EBNA1-mediated transforming gene expression during the acute phase of Epstein-Barr virus infection independent of rapid loss of viral genome. *Cancer Sci* 40(5): 1124-1133, 2010.
 - 19) Sugimoto C, Watanabe S, Naruse T, Kajiwara E, Shiino T, Umamo N, Ueda K, Sato H, Ohgimoto S, Hirsch V, Villinger F, Ansari AA, Kimura A, Miyazawa M, Suzuki Y, Yamamoto N, Nagai Y, Mori K: Protection of macaques with diverse MHC genotypes against a heterologous SIV by vaccination with a deglycosylated live-attenuated SIV. *Plos One* 5: e11678, 2010.

- 20) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. *Immunogenetics* 62, 601, 2010.
- 21) Lee K, Ambrose Z, Martin TD, Oztop I, Mulky A, Julias JG, Vandegraaff N, Baumann JG, Wang R, Yuen W, Takemura T, Shelton K, Taniuchi I, Li Y, Sodroski J, Littman DR, Coffin JM, Hughes SH, Unutmaz D, Engelman A, KewalRamani VN: Flexible use of nuclear import pathways by HIV-1. *Cell Host Microbe* 7(3): 221-233, 2010.
- 22) Tee KK, Lam TT, Chan YF, Bible JM, Kamarulzaman A, Tong CY, Takebe Y, Pybus OG: Evolutionary genetics of human enterovirus 71: origin, population dynamics, natural selection, and seasonal periodicity of the VP1 gene. *J Virol* 84(7): 3339-3350, 2010.
- 23) Han X, Dai D, Zhao B, Liu J, Ding H, Zhang M, Hu Q, Lu C, Goldin M, Takebe Y, Zhang L, Shang H: Genetic and epidemiologic characterization of HIV-1 infection in Liaoning Province, China. *J Acquir Immune Defic Syndr* 53 Suppl 1:S27-33, 2010
- 24) Li Y, Tee KK, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li XJ, Tsuchiura T, Yang R, Govindasamy S, Yong YK, Tan HY, Pybus OG, Kamarulzaman A, Takebe Y: Identification of a novel second-generation circulating recombinant form (CRF48_01B) in Malaysia: a descendant of the previously identified CRF33_01B. *J Acquir Immune Defic Syndr* 54(2): 129-136, 2010.
- 25) Li Y, Uenishi R, Hase S, Liao H, Li XJ, Tsuchiura T, Tee KK, Yang R, Pybus OG, Takebe Y: Explosive HIV-1 subtype B' epidemics in Asia driven by geographic and risk group founder events. *J Virol* 402: 223-227, 2010.
- 26) Takebe Y, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li Y, Li XJ, Han X, Shang H, Kamarulzaman A, Yamamoto N, Pybus OG, Tee KK: Reconstructing the epidemic history of HIV-1 circulating recombinant forms CRF07_BC and CRF08_BC in East Asia: the relevance of genetic diversity and phylodynamics for vaccine strategies. *Vaccine* 28 Suppl 2: B39-44, 2010.
- 27) Arita M, Takebe Y, Wakita T, Shimizu H: A bifunctional anti-enterovirus compound that inhibits replication and the early stage of enterovirus 71 infection. *J Gen Virol* 91(Pt 11): 2734-2744, 2010.
- 28) Zhang W, Tong X, Nakasone T, Yue XT, Yamamoto N, Liu XY, Yang RG: Activity of superior interferon α against HIV-1 in severe combined immunodeficient mice reconstituted with human peripheral blood leukocytes. *Chin Med J* 124(3):396-400, 2011.
- 29) Matsuo K, Yasutomi Y: *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin as a vaccine vector for global infectious disease control. *Tuberculosis Research and Treatment*, vol. 2011, article ID 574591, 2011.
- 30) Ibe S, Sugiura W: Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations. *Future Microbiol* 6(3): 295-315, 2011.
- 31) Shibata J, Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F and Tanaka H: Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30 N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. *Antiviral Res* 90(1): 33-41, 2011.
- 32) Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W: Outbreak of hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in cases coinfecting with HIV-1 in Japan. *J Clin Microbiol* 49(3): 1017-1024, 2011.
- 33) Iwabu Y, Kinomoto M, Tatsumi M, Fujita H, Shimamura M, Tanaka Y, Ishizaka Y, Nolan D, Mallal S, Sata T, Tokunaga T: Differential anti-Apobec 3G activity of HIV-1 vif proteins derived from different subtypes. *J Biol Chem* 285: 35350-35358, 2011.
- 34) Tanaka T, Narumi T, Ozaki T, Sohma A, Ohashi N, Hashimoto C, Itotani K, Nomura W, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H: Azamacrocyclic-metal complexes as CXCR4 antagonists. *Chem Med Chem* 6: 834-839, 2011.
- 35) Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct Epstein-Barr virus latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. *Cancer Sci* 102(6): 1236-1241, 2011.
- 36) Yanagita H, Urano E, Matsumoto K, Ichikawa R, Takaesu Y, Ogata M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T: Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg Med Chem* 19: 816-825, 2011.

- 37) Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J: Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. *Gene Ther*, in press.
2. 和文発表
- 1) 伊部史朗, 杉浦 互: 薬剤耐性 HIV の現状と対策. *日本臨床* 68(3): 476-479, 2010.
 - 2) 服部純子, 杉浦 互: 我が国における薬剤耐性 HIV の現状. *感染・炎症・免疫* 39(4), 2010.
 - 3) 吉居廣朗, 杉浦 互: ラルテグラビルの耐性. *医薬ジャーナル* 46(8), 2010.
 - 4) 杉浦 互: 5th International Workshop on HIV Transmission/ 18th International AIDS Conference、メディカルレビュー社 1(2), 2010.
 - 5) 杉浦 互: HIV 感染—最新の疫学・臨床・治療, *内科* 106(5), 2010.
 - 6) 伊部史郎, 横幕能行, 杉浦 互: 本邦における HIV-2 の疫学動向と新たな組換え流行株 CRF01_AB の同定. *IASR* 31(8): 232-233, 2010.
 - 7) 宮崎菜穂子, 杉浦 互: わが国における抗 HIV 治療と多剤耐性症例の現状. *IASR* 31(8): 233-234, 2010.
 - 8) 馬場昌範, 中田浩智, 朝光かおり, 駒野 淳, 岡本実佳, 杉浦 互: Perspectives of anti-HIV research. *The Journal of AIDS Research*. 12(2): 74-80, 2010.
 - 9) 石川晃一, 太田伸生, 山岡昇司, 大野喜久郎: 西アフリカ地域に根付いた感染症研究の遂行と今後の展開. *化学療法の領域* 26(4): 167-172, 2010.
 - 10) 長谷彩希, 上西理恵, 武部 豊: HIV 感染症と AIDS の疫学: 世界と日本. (満屋裕明編) 最新医学別冊 新しい診断と治療の ABC 65, HIV 感染症と AIDS, 最新医学社 p18-p33, 2010.
 - 11) 武部 豊: 特集 HIV/AIDS —最新の治療研究の進歩— HIV ワクチン開発の最新動向. *日本臨床* 68 (3): 525-535. 2010.
 - 12) 武部 豊 (分担執筆): ヒト後天性免疫不全症候群 (エイズ) の分子予防医学. *分子環境予防医学 (改訂版) 生命科学の予防・環境医学への統合 (編集責任者・松島綱治)*. 本の泉社 p165-p188, 2010.
 - 13) 武部 豊: 特集 どう守る 性の健康. HIV ワクチン開発の可能性: 立ちどころの根幹問題と今後の展望. *臨床とウイルス* 38 (4): 243-260. 2010.
 - 14) 石川晃一: ガーナを知るための 47 章. 分担執筆 (病気編), 明石書店 2011 印刷中.
1. 国際学会
- 1) Iwatani Y, Sugiura W: Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals four lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination near the C-terminal end. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan.
 - 2) Yoshii H, Iwatani Y, Sugiura W: Spontaneous APOBEC3G expression which determines permissive phenotype against Vif-deficient HIV-1 replication, is caused by constitutive activation of Stat1 in T-cell lines. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan
 - 3) Takemura T, Lee K, Yuen W, Mulky A, Martin TD, Ambrose Z, Bieniasz PD, Hatzioannou T, KewalRamani VN: HIV-1 restriction by a cyclophilin-related factor in human cells. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan.
 - 4) Yoshii H, Kitamura S, Sugiura W, Iwatani Y: Constitutive activation of Stat1 causes spontaneous APOBEC3G expression, which determines permissive phenotype against vif-deficient HIV-1 replication in T-cell lines. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
 - 5) Iwatani Y, Liu L, Chan DS, Yoshii H, JG Levin, Gronenborn AM, Sugiura W: Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals four lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
 - 6) Komano J, Aoki T, Urano E, Ichikawa R, Miyauchi K: Production of GFP-incorporated infectious pseudovirion by the N-terminal modification of HIV-1 Gag. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
 - 7) Urano E, Kuramochi N, Tomoda H, Takebe Y, Miyauchi K, Komano J, Morikawa Y: A novel post-entry inhibitor of HIV-1 replication targeting the capsid domain of Gag. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
 - 8) Suzuki H, Hattori J, Nishizawa M, Ibe S, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Previous antiretroviral exposure enhances accumulation of mutations in the integrase region and affects acquisition of raltegravir resistance. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12,

II. 学会発表

- 2010, Dubrovnik, Croatia.
- 9) Masaoka T, Sugiura W, Iwatani Y, Sawasaki T, Matsunaga S, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, Ryo A: A high-throughput phenotypic assay for HIV-1 protease drug resistance using a wheat cell-free protein production system. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12, 2010, Dubrovnik, Croatia.
 - 10) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato K, Mori H, Minami R, Sugiura W, the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and non-recently infected treatment-naive patients in Japan. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12, 2010, Dubrovnik, Croatia.
 - 11) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: Molecular epidemiology of HIV-2 in Japan: identification of the first circulating recombinant form of HIV-2, CRF01_AB. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
 - 12) Nishizawa M, Hattori J, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W: Sensitive testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
 - 13) Sugiura W, Hattori J, Yoshida S, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Tateyama M, Ueda M, Kato S, Ito T, Oie M, Ueda A: A nationwide surveillance study on the prevalence of drug-resistance mutations among newly diagnosed individuals in Japan from 2003 to 2008. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
 - 14) Ibe S, Yokomaku Y, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: Development of a highly sensitive and reproducible plasma HIV-2 RNA copy quantification method for monitoring antiretroviral treatment. 18th International AIDS Conference, Jul. 18-23, 2010, Vienna, Austria.
 - 15) Miyazaki N, Matsushita S, Fujii T, Iwamoto A, Sugiura W, Japanese HIV-MDR Study Group: Drug-resistant genotyping to guide selection of etravirine, darunavir and raltegravir in salvage therapy for multi-drug-resistant cases improves outcomes. 18th International AIDS Conference, Jul. 18-23 2010, Vienna, Austria.
 - 16) Komano J, Urano E, Hamatake M, Maeda F, Nagatsuka Y, Takekoshi M: Inhibition of HIV replication by a CD4-reactive Fab of an IgM clone isolated from a healthy HIV-seronegative individual. 18th International AIDS Conference, Jul.18-23, 2010, Vienna, Austria.
 - 17) Murakami T, Wu H, Kawamata M, Tsuruoka M, Chiba J, Takemura T: Roles of Rab proteins in HIV-1 assembly. 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 7-10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
 - 18) Urano E, Kuramochi N, Miyachi K, Ichikawa R, Tomoda H, Takebe Y, Komano J, Morikawa Y: A novel postentry inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication Screened byYeast Membrane-associated Two-hybrid System. 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep.7-10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
 - 19) Sugiura W: A nationwide surveillance study on the prevalence of drug-resistance mutations among newly diagnosed individuals in Japan from 2003 to 2009, The US-Japan Cooperative Medical Science Program 23rd Joint Meeting of AIDS Panel, Sep. 10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan
 - 20) Komano J: Study on neutralizing antibodies against two highly variable viruses. The US-Japan Cooperative Medical Science Program 23rd Joint Meeting of AIDS Panel, Sep.10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
 - 21) Takebe Y, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Liao H, McMahon JB, O'Keefe BR: Effective protection of HCV infection by HCV entry inhibitor griffithsin, newly identified carbohydrate binding protein, in mouse infection model. 7th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Sep. 10-14, 2010, Yokohama, Japan.
 - 22) Matsubara A, Watanabe K, Kawano M, Mizuno S, Tsujimura Y, Inada H, Fukumura M, Nosaka T, Matsuo K, Yasutomi Y. Intranasal immunization with replication-deficient recombinant human parainfluenza type 2 virus-Ag85B showed protective effects against *Mycobacterium tuberculosis* infection. 2nd Global TB Vaccine Forum, Sep. 21-24, 2010, Tallin, Estonia.
 - 23) Komano J: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latency. 7th Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS, Center for Disease Control Department of

- Health, Oct.6, 2010, National Taiwan University, College of Medicine, Taiwan.
- 24) Brandful JAM, Barnor JS, Ampofo WK, Aidoo S, Bonney EY, Bonney JHK, Alale MK, Nyarko AK, Ishikawa K, Yamaoka S: Retroviral therapy in Ghana; Are new therapies relevant? International Conference on Antivirals for Neglected and Emerging Viruses-The 9th ICAV Symposium- with a Micro-symposium on Targeting Host Proteins in HIV Therapy, Oct. 10-13, 2010, Lübeck, Germany.
- 25) Mori K, Watanabe S, Saito Y, Sato H, Sugimoto C: A critical role of NK cells and effector CD8+ T cells for protective host response against heterologous SIV infection in rhesus macaques vaccinated with deglycosylated live attenuated SIV. 28th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Oct. 19-22, 2010, New Orleans, USA.
- 26) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and not-recently infected treatment-naïve patients in Japan. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.
- 27) Ibe S, Yokomaku Y, Hattori J, Iwatani Y and Sugiura W: First case of HIV-2 CRF01_AB infection treated with combination antiretroviral therapy. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.
- 28) Takebe Y, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Liao H, Lund G, Koshy R, McMahan JB, O'Keefe BR: Characterization of HCV entry inhibitor griffithsin, newly identified carbohydrate binding protein, and its effective protection against HCV infection in mouse infection model. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance: Target and Mechanisms, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.
- 29) Sugiura W: Characterization and phylodynamic analysis of Drug-Resistant HIV-1 Transmission in Japan. US-Japan Joint AIDS Panel, HIV/AIDS Resistance: Impact in Asia and Beyond, Dec. 8-10, 2010, Singapore.
- 30) Komano J, Urano E, Yanagita H, Morikawa Y, Hoshino T: Novel HIV-1 inhibitors targeting the last viral enzymatic activity and the structural protein. US-Japan Joint AIDS Panel, HIV/AIDS Resistance: Impact in Asia and Beyond, Dec. 8-10, 2010, Singapore.
- 31) Urano E, Kuramochi N, Miyauchi K, Tomoda H, Takebe Y, Komano J, Morikawa Y: A novel HIV-1 inhibitor targeting Gag screened by yeast membrane-associated 2-hybrid system. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 27-Mar. 2, 2011, Boston, MA, USA.
- 32) Mori K, Saito Y, Sugimoto C: Glycosylation determines tropism of SIV to CD4+ T cell subsets that define pathogenicity and live attenuated vaccine properties. Keystone Symposia, HIV Evolution, Genomics and Pathogenesis, Mar. 20-25, 2011, Whistler, Canada.
2. 国内学会
- 1) 伊部史朗、横幕能行、服部純子、杉浦 互. 定量 PCR 法を用いた HIV-2 viral load 測定系の確立とその臨床応用. 第 84 回日本感染症学会総会, 2010 年 4 月 5-6 日, 京都.
- 2) 星野忠次, 柳田浩志, 松元輝礁, 尾瀨将一, 浦野恵美子, 村上 努, 駒野 淳: 抗 HIV 薬 RNaseH 活性阻害剤の開発. 第 8 回 ナノ学会大会, 2010 年 5 月 14 日, 岡崎.
- 3) 岩谷靖雅, 杉浦 互: 抗 HIV 宿主因子 APOBEC3G の発現制御と分解. 第 12 回白馬シンポジウム, 2010 年 5 月 14-15 日, 徳島.
- 4) 服部純子, 重見 麗, 杉浦 互: BED アッセイを用いた未治療 HIV 感染者の動向調査. 第 12 回白馬シンポジウム in 徳島~最先端のエイズ研究を徹底討論する~, 2010 年 5 月 14-15 日, 徳島.
- 5) 小森谷真央, 村上 努, 鈴木慎太郎, 鳴海哲夫, 野村 渉, 山本直樹, 玉村啓和: HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出. 第 5 回ケミカルバイオロジー学会年会, 2010 年 5 月 18-19 日, 横浜.
- 6) 駒野 淳: Development of RNase H inhibitor associated with HIV-1 RT. 鹿児島大学医歯学総合研究科 医学研究講義 特別講演会, 2010 年 8 月 30 日, 鹿児島.
- 7) 北村紳悟, 吉居廣朗, 前島雅美, 横幕能行, 杉浦 互, 岩谷靖雅: APOBEC3C における HIV-1 Vif に対する感受性を決定する領域の探索. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
- 8) 正岡崇志, 杉浦 互, 澤崎達也, 松永智子, 遠藤弥重太, 巽 正志, Robert Shafer, 山本直樹, 梁 明秀: 酵素活性を指標とした HIV プロテアーゼ薬剤耐性新規検査法の開発. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会,

- 2010年11月7-9日, 徳島.
- 9) 吉居廣朗, 北村紳悟, 前島雅美, 杉浦 互, 岩谷靖雅: リンパ球由来細胞株における vif 欠損 HIV に対する異なる感受性は Stat1 活性化状態に関する. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 10) 竹村太地郎, 川又美弥子, 村上 努: CypA 非依存的に増殖する HIV-1 変異株の分離. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 11) 村上 努, 小森谷真央, 鈴木慎太郎, 橋本智恵, 鳴海哲夫, 野村 渉, 山本直樹, 玉村啓和: 細胞膜透過性 MA 部分ペプチドライブラリーを用いた新規抗 HIV-1 ペプチドの探索と創出. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 12) 浦野恵美子, 倉持紀子, 市川玲子, 宮内浩典, 供田 浩, 武部 豊, 駒野 淳, 森川裕子: HIV-1 Gag を標的とする低分子化合物 BMMP によるウイルスエントリー阻害機構. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 13) 星野忠次, 柳田浩志, 松元輝礁, 尾湯将一, 高江州善寿, 浦野恵美子, 市川玲子, 村上 努, 駒野 淳: 新規 HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 14) 今留謙一, 矢島美沙子, 川野布由子, 市川紗弓, 清水則夫, 中村浩幸, 松田 剛, 駒野 淳, 山本直樹, 藤原製悦: EB ウイルス関連血球貪食症候群モデルマウスの作製と解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 15) 宮内浩典, 浦野恵美子, 駒野 淳: ハイスループットディスプレイアセンブリーアッセイの構築. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 16) 佐藤洋隆, 杉本智恵, 渡辺哲, 齋藤陽平, 永井美之, 森 一泰: 糖鎖欠失変異による SIV の低病原性化のメカニズム. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日, 徳島.
 - 17) 俣野哲朗: エイズワクチン開発: HIV 感染症克服への挑戦. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 18) 服部純子, 椎野禎一郎, 瀧永博之, 林田庸総, 吉田 繁, 千葉仁志, 小池隆夫, 佐々木悟, 伊藤俊広, 内田和江, 原 孝, 佐藤武幸, 上田敦久, 石ヶ坪良明, 近藤真規子, 今井光信, 長島真美, 貞升健志, 古賀一郎, 太田康男, 山元泰之, 福武勝幸, 加藤真吾, 藤井毅, 岩本愛吉, 西澤雅子, 仲宗根正, 岡 慎一, 伊部史朗, 横幕能行, 上田幹夫, 大家正義, 田邊嘉也, 渡辺香奈子, 渡邊 大, 白阪琢磨, 小島洋子, 森 治代, 中桐逸博, 高田 昇, 木村昭郎, 南 留美, 山本政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 杉浦 互: 2003-2009 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 19) 仲宗根正, 熊倉 成, 村上 努, 山本直樹: KRH-3955 単回内服による SHIV/サルモデルでの長期感染予防効果. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 20) 木下枝里, 平野 淳, 柴田雅章, 高橋昌明, 野村敏治, 脇坂達郎, 横幕能行, 杉浦 互: リファンピシン併用下におけるインテグラーゼ阻害剤 ラルテグラビルの投与量に関する検討. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 21) 横幕能行, 今村淳治, 平野 淳, 伊部史朗, 岩谷靖雅, 杉浦 互: 名古屋医療センターにおける etravirine の使用状況と効果および適応に関する検討. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 22) 高橋昌明, 平野 淳, 木下枝里, 柴田雅章, 野村敏治, 横幕能行, 杉浦 互: HPLC using UV detectin for the simultaneous quantification of etravirine(TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 23) 平野 淳, 木下枝里, 柴田雅章, 高橋昌明, 野村敏治, 横幕能行, 杉浦 互: Tipranavirtide 併用患者に対する TDM の有効例. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 24) 吉居廣朗, 前島雅美, 北村紳悟, 横幕能行, 杉浦 互, 岩谷靖雅: 抗 HIV 宿主因子 APOBEC3 ファミリーの細胞依存的な発現調節機構の解明. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 25) 西澤雅子, 服部純子, 横幕能行, Jeffrey Johnson, Walid Heneine, 杉浦 互: 高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療 HIV/AIDS 症例における微小集簇薬剤耐性 HIV 調査研究. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 26) 奥村かおる, 横幕能行, 三和治美, 山田由美子, 杉浦 互, 岩谷靖雅, 平野 淳, 木下枝里: ベナンパックス吸入時の苦味の軽減に対するハッカ飴の使用とその効果 第 2 報-他の有効な手段を探すためのハッカの有効性の検証-. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
 - 27) 柴田雅章, 平野 淳, 木下枝里, 高橋昌明, 野村敏治,

- 横幕能行, 杉浦 互: 薬剤師のための HIV 研修会開催についての事前アンケート調査結果. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 28) 正岡崇志, 杉浦 互, 澤崎達也, 松永智子, 遠藤弥重太, 巽 正志, Shafer Robert, 山本直樹, 梁 明秀: コムギ無細胞合成 HIV プロテアーゼを用いた薬剤耐性高速検査法の開発. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 29) 椎野禎一郎, 貞升健志, 長島真美, 服部純子, 杉浦 互: 国内感染者集団の大規模塩基配列解析 1: CRF01_AE の動向と微小系統群の同定. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 30) 今村淳治, 横幕能行, 服部純子, 岩谷靖雅, 杉浦 互: 新規 HIV/AIDS 診断症例におけるトロピズムに関する検討. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 31) 谷 麗君, 立川-川名 愛, 椎野禎一郎, 細谷紀彰, 鯉渕智彦, 藤井 毅, 三浦聡之, 杉浦 互, 岩本愛吉: 配列特異的オリゴプルーブを用いた HIV-1 薬剤耐性変異検出法の開発. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 32) 木村雄貴, 藤野真之, 正岡崇志, 服部純子, 横幕能行, 岩谷靖雅, 鈴木淳巨, 渡邊信久, 杉浦 互: HIV-1 のダルナビル耐性獲得機構の酵素学的構造学的解明. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 33) 竹村太地郎, 村上 努, KewalRamani Vineet: HIV-1 感染における CypA の機能解析. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 34) 小森谷真央, 村上 努, 鈴木慎太郎, 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 渉, 山本直樹, 玉村啓和: HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 35) 村上 努, 竹村太地郎, 熊倉 成, 山本直樹: 新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 に対する耐性 HIV-1 の誘導とその解析. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 36) 橋本知恵, 鳴海哲夫, 野村 渉, 中原 徹, 田中智博, 大庭賢二, 相馬 晃, 長谷山正樹, 村上 努, 山本直樹, 玉村啓和: HIV-1 侵入過程の動的超分子機構を基にした新規エイズワクチンの創製. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 37) 橋本知恵, 田中智博, 浦野恵美子, 尾崎太郎, 新井啓之, 鳴海哲夫, 野村 渉, Maddli K, Pommier Y, 山本直樹, 駒野 淳, 玉村啓和: HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害剤の創出. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 38) 宮内浩典, 浦野恵美子, 駒野 淳: HIV 複製を増強する EBV 感染 B 細胞由来のサイトカイン. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 39) 滝澤万里, 草川 茂, 北村勝彦, 長縄 聡, 本多三男, 村上利夫, 山本直樹, 駒野 淳: 非エピトープ変異による中和抗体感受性制御を指標にした HIV Env 定常状態の構造解析. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 40) 柳田浩志, 松元輝礁, 尾瀉将一, 高江州善寿, 浦野恵美子, 市川玲子, 村上 努, 駒野 淳, 星野忠次: 新規 HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤開発における構造活性相関. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 41) 尾崎太郎, 田中智博, 橋本知恵, 宮内浩典, 鳴海哲生, 山本直樹, 駒野 淳, 玉村啓和: gp120 の CD4 結合サイトを模倣した新規抗原分子の創製. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 42) 森 一泰, 杉本智恵, 横田恭子, 鈴木康夫, 山本直樹, 永井美之: ウイルススパイクの糖鎖修飾の減少は HIV の細胞・組織トロピズムを変化させ生ワクチンとして防御免疫を誘導する. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 43) 齋藤陽平, 渡辺 哲, 杉本智恵, 佐藤洋隆, 山本直樹, 永井美之, 森 一泰: 糖鎖変異生ワクチンが誘導する防御免疫における CD8+ 細胞の役割. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 44) 武部 豊: 世界からみた日本の HIV 感染症の分子疫学: 我が国の HIV 流行はいかにして始まり、どこに向かおうとしているのか “Molecular Epidemiology of HIV in Japan from Global Point of View: Where Does It Come From? Where Is It Going?” プレナリー講演. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日, 東京.
- 45) 俣野哲朗: エイズワクチン開発: 国際共同臨床試験プロジェクト. 第 13 回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ, 2010 年 11 月 25 日, 東京.
- 46) 村上 努, 呉 鴻規, 川又美弥子, 鶴岡幹大, 千葉 丈, 竹村太地郎: Rab 蛋白質の HIV-1 複製における役割. 第 33 回日本分子生物学会年会, 2010 年 12 月 7-10 日,

神戸.

- 47) 山吉麻子, 林 里衣, 福本裕之, 小柳義夫, 駒野 淳,
小堀哲生, 村上 章: Non-coding RNA (7SK) の機能解
析と機能性人工核酸としての応用. 第 33 回日本分子
生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会,
2010 年 12 月 7-10 日, 神戸.
- 48) Miyauchi K, Aoki T, Urano E, Ichikawa R, Komano J :
Protein transduction by pseudo-lentiviral nano particles.
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学
会大会 合同大会, 2010 年 12 月 7-10 日, 神戸.
- 49) Urano E, Miyauchi K, Komano J : The analysis of novel
cyclin T1 splice variant lacking exon 7. 第 33 回日本分
子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大
会, 2010 年 12 月 7-10 日, 神戸.